

SENSITIVE PROTEOMIK

STRATEGIEN DER EINZELZELLPROTEOMIK

Komplexe Gewebe bestehen aus einer Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen in distinkten Zuständen, Morphologien und Funktionen. Um diese Komplexität insbesondere im Zusammenhang mit der Entstehung von Krankheiten zu verstehen und zu untersuchen, wurde in den letzten Jahren ein immer größerer Fokus auf Einzelzellanalysen im Gegensatz zu Analysen von Gesamtgeweben gelegt. Dabei konzentrierten sich Forscher vorerst auf Genomik und Transkriptomik, da sich Nukleinsäure-Moleküle auch in sehr geringen Ausgangsmengen unkompliziert amplifizieren und später quantifizieren lassen. Das Proteom, bestehend aus Proteintypen unterschiedlicher Abundanz, die auch noch als Isoformen vorkommen können und posttranslationalen Modifikationen unterliegen, bestimmt jedoch maßgeblich Phänotyp und Funktion der Zellen. Ohne die Möglichkeit der Amplifikation ist für eine proteomische Analyse einer einzelnen Zelle die Sensitivität der verwendeten Extraktions- und Detektionsmethoden von entscheidender Bedeutung.

Antikörper-basierte Ansätze wie Durchflusszytometrie und Massenzytometrie (CyTOF) erlauben die zielgerichtete Quantifizierung von ca. 50 markierten Proteinen an der Oberfläche oder im Inneren von Einzelzellen. Multiplexierte affinitätsbasierte Methoden sind z.B. die Tapestry Plattform (Mission Bio, San Francisco, USA) zur Multi-Omics Analyse von

Einzelzellen im Krebs-Kontext mit vorgegebenen oder individuell angepassten DNA- und Protein-Panels oder die von Olink Proteomics (Uppsala, Schweden) entwickelte PEA-Technologie (Proximity Extension Assay, Olink Explore) [<https://doi.org/10.1038/s42003-021-02142-w>], die sogar die Quantifizierung von bis zu 1536 Proteinen mit höchster Spezifität und Sensitivität ermöglicht.

Auch die Massenspektrometrie als umfassende Methode zur Identifizierung und Quantifizierung von Proteinen in komplexen Proben machte in den letzten Jahren unerwartet schnelle Fortschritte bezüglich der Sensitivität der Proteinextraktion und -analytik. Eine besondere Herausforderung stellt dabei die Notwendigkeit zur Miniaturisierung der Probenvorbereitung dar – kleinste Proteinmengen aus nur einer Zelle, die nicht amplifiziert werden können, müssen möglichst verlustfrei proteolytisch werden, die daraus resultierenden Peptide dann mittels Nanofluss-basierter Chromatographie und daran gekoppelte hochempfindliche Massenspektrometrie detektiert und quantifiziert werden. Die Gewinnung von Einzelzellen aus dem Gewebeverband unter Erhalt ihres zelltypischen Proteoms einschließlich aller subzellulären Kompartimente mit z.B. Zellfortsätzen und Zelloberfläche ist eine weitere besondere Herausforderung der Einzelzellproteomik. Neueste Lösungsansätze zur effizienten Probenvorbereitung



TERMINE

3. bis 7. April 2022, Leipzig

Proteomic Forum 2022/XIV.

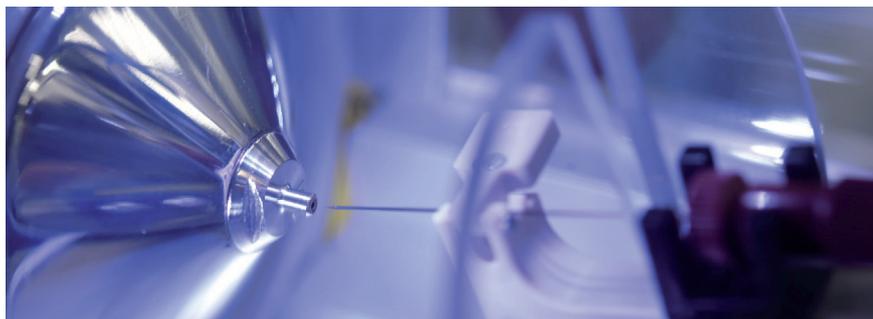
Annual Congress of the European Proteomics Association (EuPA)

www.proteomic-forum.com

tung in Kombination mit innovativen analytischen Ansätzen sind z. B. proteoCHIP (Mechtler Labor, IMP, Vienna Biocenter; Quantifizierung von fast 2,000 Proteinen aus 158 humanen Einzelzellen), nanoPOTS (Kelly Labor, Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington; Quantifizierung von über 1000 Proteinen aus primären humanen Neuronen), SCoPE2 in Kombination mit mPOP (Slavov Labor, Northeastern University in Boston, Massachusetts; Quantifizierung von über 3042 Proteinen in 1490 einzelnen Monozyten und Macrophagen) und T-SCP (Mann Labor, MPI Biochemie, Martinsried; Quantifizierung von 1441 Proteinen in einzelnen Hela Zellen mit diaPASEF) [<https://doi.org/10.1038/d41586-021-02530-6>]. Gemeinsamkeiten dieser Ansätze sind dabei die Zelllyse und der proteolytische Verdau im Nanoliter-Maßstab und die Verwendung neuester, hoch-sensitiver Massenspektrometer sowie für kleinste Proteinmengen angepasste Analysemethoden.

Das 2018 ins Leben gerufene Single Cell Proteomics Meeting in Boston [<https://single-cell.net>] dient hierbei als Anziehungspunkt für Wissenschaftler verschiedenster Disziplinen um neue Ideen und technologische Entwicklungen auf dem jungen Feld der Einzelzellproteomik voranzutreiben.

Dr. Stefanie Hauck, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH)



Ionenquelle eines Massenspektrometers.